

α -硫辛酸通过降低氧化应激改善 2 型糖尿病低血糖脑病的研究

康健¹, 冯亚敏², 萧丽军³, 唐莹², 祝群^{2*}

(¹南京医科大学第一附属医院急诊中心, 江苏 南京 210029; ²南京医科大学第二附属医院内分泌科, 江苏 南京 210011; ³南京医科大学第二附属医院东院老年科, 江苏 南京 210003)

[摘要] 目的:探讨抗氧化剂 α -硫辛酸对 2 型糖尿病低血糖脑病氧化应激、内皮素-1 和神经功能恢复的影响。方法:将 60 例 2 型糖尿病低血糖脑病患者随机分为 α -硫辛酸治疗组(30 例)和对照组(30 例),观察两组治疗前后氧化应激标志物丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和内皮素-1(endothelin-1, ET-1)的变化,并比较两组治疗前后神经功能损害程度评分的不同。结果: α -硫辛酸组治疗后与治疗前相比较:MDA、ET-1 以及神经功能损害程度评分均显著降低(分别为 $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$),SOD 显著增高($P < 0.01$)。对照组治疗后与治疗前相比较:MDA 与神经功能损害程度评分显著降低(分别为 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。 α -硫辛酸组与对照组治疗后相比较,MDA、ET-1 及神经功能损害程度评分显著降低(分别为 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$),SOD 显著增高($P < 0.05$)。结论: α -硫辛酸可改善氧化应激及内皮功能,有助于 2 型糖尿病低血糖脑病的恢复。

[关键词] 糖尿病低血糖脑病;氧化应激; α -硫辛酸;内皮素-1

[中图分类号] R587.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)11-1534-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20141115

Investigation on the use of α -lipoic acid for ameliorate hypoglycemic encephalopathy in patients with type 2 diabetes by reducing oxidative stress

Kang Jian¹, Feng Yamin², Xiao Lijun³, Tang Ying², Zhu Qun^{2*}

(¹Emergency Center, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Endocrinology, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210011; ³Department of Geriatrics, East District of the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate influence of antioxidant α -lipoic acid on oxidative stress, endothelin-1 and recovery of neuronal function in type 2 diabetic patients with hypoglycemic encephalopathy. **Methods:** A total of 60 type 2 diabetic patients with hypoglycemic encephalopathy were randomly divided to control group ($n=30$) and α -lipoic acid treatment group ($n=30$). The differences in malondialdehyde(MDA), superoxide dismutase (SOD) and endothelin-1 (ET-1) were observed between the control group and the α -lipoic acid treatment group before and after treatment. Neurological impairment score was compared between the two groups. **Results:** The levels of MDA and ET-1 as well as the neurological impairment score were significantly decreased after α -lipoic acid treatment ($P < 0.01$, $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively), whereas the level of SOD was significantly increased after α -lipoic acid treatment ($P < 0.01$). The levels of MDA and the neurological impairment score were significantly decreased in the control group after treatment ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively). Furthermore, there were significant decreases in the levels of MDA And ET-1, neurological impairment score ($P < 0.05$, $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively), and the level of SOD ($P < 0.05$) in the α -lipoic acid group compared to the control group after treatment. **Conclusion:** α -lipoic acid can ameliorate hypoglycemic encephalopathy in type 2 diabetic patients by reducing oxidative stress and improving endothelial function.

[Key words] hypoglycemic encephalopathy in diabetes mellitus; oxidative stress; α -lipoic acid; endothelin-1

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(11): 1534-1537]

[基金项目] 国家自然科学基金(81270898)

*通讯作者(Corresponding author), E-mail: zhuqun@njmu.edu.cn

低血糖脑病是由多种原因引起血糖过低,并导致暂时或永久性脑功能障碍的临床综合征。近年来,随着糖尿病发病率的增加,糖尿病患者降血

糖治疗过程中发生的低血糖已成为低血糖脑病最主要的原因。氧化应激在糖尿病血管神经并发症中扮演着关键角色。最近研究发现,氧化应激可能与低血糖脑病的发生亦关系密切^[1,2]。本研究通过观察抗氧化治疗对 2 型糖尿病低血糖脑病患者氧化应激、血管内皮损伤标志物内皮素-1(endothelin-1, ET-1)及神经功能的影响,以期进一步阐明 2 型糖尿病低血糖脑病的发病机制,并为其治疗提供一个新的靶点。

1 对象和方法

1.1 对象

选取 2011 年 4 月~2014 年 4 月于南京医科大学第一及第二附属医院诊治的 2 型糖尿病低血糖脑病患者 60 例,所有患者入选后按随机数字表法分为对照组和 α-硫辛酸治疗组,每组各 30 例。对照组患者男 17 例,女 13 例,平均年龄(61.3 ± 11.4)岁。治疗组患者男 18 例,女 12 例,平均年龄(62.5 ± 12.0)岁。两组患者性别构成、年龄、糖尿病病程、体质指数、高血压、血脂、吸烟等比较差异无统计学意义,具有可比性。2 型糖尿病低血糖脑病的诊断标准:有明确 2 型糖尿病史;发病时测血糖 < 2.8 mmol/L,患者均有不同程度的神经精神症状;入院后均行血糖监测并行心电图、颅脑 CT 或 MRI 检查排除糖尿病心脑血管病等可能引发神经精神症状的其他疾病;进食或使用葡萄糖后症状缓解。排除标准:2 个月内发生过糖尿病酮症酸中毒、高渗昏迷等严重急性并发症;糖尿病严重慢性并发症、感染、恶性肿瘤、严重脏器功能减退等。所有患者近期末服用维生素 C、血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂等抗氧化药物。

1.2 方法

1.2.1 给药方法

患者入院后在平稳血糖治疗基础上,α-硫辛酸组用 α-硫辛酸注射液 0.6 g 加入 0.9% 氯化钠 250 ml,避光 60 min 内滴完,每日 1 次,共 14 d。治疗期间,2 组患者均不使用可能影响研究结果的其他抗氧化药物。

1.2.2 检测指标和神经功能损害程度评分

所有测试者均采取晨空腹静脉血,分离血清于 -80℃ 保存,待测氧化应激标志物丙二醛(malonaldehyde, MDA),反映机体抗氧化能力的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)以及 ET-1。MDA、SOD 试剂盒购自南京建成生物工程研究所,严格按照说明书进行操作。ET-1 用放免法测定,试剂盒购自深圳晶美生物技术公司。两组治疗前后均采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIH stroke scale, NIHSS)从意识水平、凝视和视野、面瘫、运动和共济失调、感觉和语言等方面对患者的神经功能进行综合评分。NIHSS 反映患者的神经功能较为客观,应用简便,因而被临床广泛使用。NIHSS 评分 0 分为正常,1~5 分为轻度神经功能损害,5~15 分为中度神经功能损害,15 分以上为重度神经功能损害。

1.3 统计学方法

所得数据采用 SPSS13.0 统计学软件进行处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组治疗前后比较采用配对 t 检验;组间比较采用独立样本 t 检验。P ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 α-硫辛酸治疗组和对照组治疗前后血糖、血脂的变化

表 1 显示,两组治疗后血糖均明显增高(P < 0.01),两组血糖、血脂比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

表 1 两组治疗前后血糖、血脂的变化

Table 1 The changes of blood glucose and blood fat in the two groups

($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	血糖 ^a	甘油三酯	总胆固醇	低密度脂蛋白胆固醇	高密度脂蛋白胆固醇
对照组					
治疗前	2.4 ± 0.3	2.1 ± 0.4	5.2 ± 0.6	3.5 ± 0.5	1.1 ± 0.2
治疗后	8.4 ± 1.7*	2.3 ± 0.5	5.1 ± 0.5	3.3 ± 0.4	1.0 ± 0.2
α-硫辛酸组					
治疗前	2.2 ± 0.3	2.4 ± 0.5	5.4 ± 0.5	3.3 ± 0.4	1.0 ± 0.2
治疗后	7.9 ± 1.4*	2.2 ± 0.5	5.2 ± 0.5	3.4 ± 0.5	1.1 ± 0.2

a: 治疗前为低血糖时测定血糖,治疗后为空腹血糖。与治疗前相比, *P < 0.01。

2.2 α-硫辛酸治疗组和对照组治疗前后氧化应激及 ET-1 的变化

表 2 显示,两组患者治疗前 MDA、SOD 及 ET-1 比

较无明显差异(P 均 > 0.05)。α-硫辛酸组治疗后 MDA、ET-1 较治疗前明显降低(分别为 t = 7.6, P < 0.001; t = 2.8, P = 0.01); SOD 明显升高(t = -4.6, P

< 0.001)。对照组治疗后MDA较前明显降低($t = 2.5$, $P = 0.02$), SOD及ET-1无明显变化($P > 0.05$)。另外 α -硫辛酸治疗组与对照组相比较,其治疗后MDA及ET-1降低(分别为 $t = 2.2$, $P = 0.03$; $t = 2.1$, $P = 0.04$)、SOD增高($t = -2.5$, $P = 0.02$)更为显著。

表2 两组治疗前后MDA、SOD及ET-1的变化

Table 2 The changes of MDA, SOD and ET-1 in the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA($\mu\text{mol/L}$)	SOD(U/ml)	ET-1(ng/L)
对照组			
治疗前	7.9 \pm 1.7	80.3 \pm 10.0	91.4 \pm 13.4
治疗后	7.5 \pm 1.5*	81.2 \pm 11.5	92.6 \pm 12.0
α -硫辛酸组			
治疗前	8.0 \pm 1.6	81.0 \pm 10.9	90.6 \pm 12.0
治疗后	6.6 \pm 1.5**	89.7 \pm 14.6**	85.9 \pm 13.0*

与治疗前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与对照组比较, # $P < 0.05$ 。

2.3 α -硫辛酸治疗组和对照组治疗前后NIHSS评分的变化

表3显示,两组患者治疗前NIHSS评分比较无明显差异($P > 0.05$)。对照组及 α -硫辛酸组治疗后NIHSS评分较治疗前均明显降低(分别为 $t = 16.3$, $P < 0.01$; $t = 14.4$, $P < 0.01$)。另外, α -硫辛酸组与对照组比较,其治疗后NIHSS评分下降更为显著($t = 3.6$, $P < 0.01$)。

表3 两组治疗前后NIHSS评分的变化

Table 3 The changes of NIHSS in the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	治疗前	治疗后
对照组	11.2 \pm 3.0	5.4 \pm 1.9*
α -硫辛酸	11.0 \pm 3.3	3.8 \pm 1.6*

与治疗前比较, * $P < 0.01$; 与对照组比较, # $P < 0.01$ 。

3 讨论

近年来,随着糖尿病发病率的迅速增长,日益增多的低血糖严重威胁着糖尿病患者的生命安全。急性低血糖引起的临床表现主要有交感异常兴奋和中枢神经系统功能障碍两类,后者也称为低血糖脑病。低血糖脑病可造成脑组织永久的损伤和认知障碍^[3]。众所周知,糖代谢紊乱导致机体氧化应激水平增高是糖尿病并发症发生的共同病理生理基础。近临床和细胞动物研究均发现:脑组织氧化应激增高在低血糖脑功能损害,特别是认知障碍中亦起着重要作用^[1,2,4]。并且,与非糖尿病低血糖脑病相比,氧化应激与糖尿病低血糖脑病关系更为密切^[5]。最近研

究显示,低血糖造成的脑组织细胞摄取葡萄糖的波动增大是导致氧化应激发生的重要原因^[6]。此外,低血糖诱导脑组织氧化应激产生因部位而异,海马区氧化应激水平增高最为明显,其次为大脑皮层和纹状体等部位^[6]。然而,临床应用抗氧化剂对于糖尿病低血糖脑病的治疗作用及机制,目前尚不清楚。基于此,本研究通过观察抗氧化剂 α -硫辛酸治疗2型糖尿病低血糖脑病患者前后氧化应激标志物MDA、代表机体抗氧化能力的SOD、血管内皮损伤标志物ET-1水平和神经功能损害NIHSS评分的变化,以初步探讨抗氧化治疗对2型糖尿病低血糖脑病氧化应激、内皮损伤和神经功能缺损的改善作用。

资料显示,氧化应激介导低血糖脑病的可能机制有:①低血糖造成的氧化应激破坏脑血管内皮细胞功能及血脑屏障^[7];②低血糖诱发的氧化应激能导致神经细胞的凋亡和功能异常,特别是影响海马区和大脑皮层的神经细胞^[8];③低血糖诱发的氧化应激可能抑制糖原代偿性分解加速供给脑细胞能量,并延缓低血糖下神经细胞的自我恢复^[9]。已有动物实验结果发现抗氧化治疗能改善低血糖造成的脑功能障碍,特别是改善海马区的功能^[10-11]。 α -硫辛酸作为天然存在的最强抗氧化剂,目前已被临床广泛应用于治疗糖尿病血管神经病变等并发症。近期发现, α -硫辛酸能通过缓解氧化应激、改善脑细胞线粒体能量供应等有助于脑卒中、脑缺血再灌注等脑细胞损伤的恢复^[12-13]。然而, α -硫辛酸对糖尿病低血糖脑病的改善作用尚未见报道。本研究发现,2型糖尿病低血糖脑病患者加用 α -硫辛酸后,其意识和认知水平的恢复、神经系统定位体征的消失等方面明显优于对照组,能客观反映神经功能损害的NIHSS评分降低更为明显,说明糖尿病低血糖脑病治疗除了稳定血糖外,应用抗氧化药物能通过改善氧化应激帮助脑机能恢复,减少后遗症发生。本研究还发现,加用 α -硫辛酸治疗后,糖尿病低血糖脑病患者的ET-1水平下降更为明显,ET-1是一类主要由内皮细胞分泌的具有强烈缩血管作用的血管活性多肽,是内皮功能损害标志物之一,参与动脉硬化、脑缺血等的发生^[14]。已有研究发现,糖尿病低血糖时ET-1的分泌显著增高,推测可能与中枢神经系统的内皮功能损害有关^[15];而氧化应激则是介导ET-1分泌的重要途径之一^[16]。因此,本研究结果提示, α -硫辛酸缓解低血糖造成的脑功能损害还可能与改善氧化应激并减少ET-1分泌从而减轻低血糖对脑血管内皮的损害有关。此外,所有加用 α -硫辛酸的患者未观察到

明显不良反应发生,说明该临床常用的抗氧化药物应用于糖尿病低血糖脑病患者较为安全。

综上,氧化应激在糖尿病低血糖脑病中扮演着重要角色,抗氧化剂 α -硫辛酸能通过缓解氧化应激和减少ET-1的分泌有助于糖尿病低血糖脑功能障碍的恢复。因此,抗氧化可能成为糖尿病低血糖脑病治疗的潜在手段之一。

[参考文献]

- [1] Salmi H, Hussain K, Lapatto R. Change in plasma and erythrocyte thiol levels in children undergoing fasting studies for investigation of hypoglycaemia [J]. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*, 2011, 17(1): 14-19
- [2] Languren G, Montiel T, Julio-Amilpas A, et al. Neuronal damage and cognitive impairment associated with hypoglycemia: An integrated view[J]. *Neurochem Int*, 2013, 63(4): 331-343
- [3] Feinkohl I, Aung PP, Keller M, et al. Severe hypoglycemia and cognitive decline in older people with type 2 diabetes: the edinburgh type 2 diabetes study[J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(2): 507-515
- [4] Ola MS, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, et al. Flavonoid, morin inhibits oxidative stress, inflammation and enhances neurotrophic support in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Neurol Sci*, 2014, 35(7): 1003-1008
- [5] Won SJ, Yoo BH, Kauppinen TM, et al. Recurrent/moderate hypoglycemia induces hippocampal dendritic injury, microglial activation, and cognitive impairment in diabetic rats[J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 182
- [6] Amador-Alvarado L, Montiel T, Massieu L. Differential production of reactive oxygen species in distinct brain regions of hypoglycemic mice[J]. *Metab Brain Dis*, 2014, 29(3): 711-719
- [7] Sajja RK, Prasad S, Cucullo L. Impact of altered glycaemia on blood-brain barrier endothelium: an *in vitro* study using the hCMEC/D3 cell line[J]. *Fluids Barriers CNS*, 2014, 11(1): 8
- [8] Suh SW, Gum ET, Hamby AM, et al. Hypoglycemic neuronal death is triggered by glucose reperfusion and activation of neuronal NADPH oxidase[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(4): 910-918
- [9] Dienel GA, Cruz NF. Contributions of glycogen to astrocytic energetics during brain activation[J]. *Metab Brain Dis*, 2014 Feb 12 [Epub ahead of print]
- [10] Páramo B, Hernández-Fonseca K, Estrada-Sánchez AM, et al. Pathways involved in the generation of reactive oxygen and nitrogen species during glucose deprivation and its role on the death of cultured hippocampal neurons [J]. *Neuroscience*, 2010, 167(4): 1057-1069
- [11] Gasparova Z, Stara V, Stolc S. Effect of antioxidants on functional recovery after *in vitro*-induced ischemia and long-term potentiation recorded in the pyramidal layer of the CA1 area of rat hippocampus[J]. *Gen Physiol Biophys*, 2014, 33(1): 43-52
- [12] Saleh MC, Connell BJ, Rajagopal D, et al. Co-administration of resveratrol and lipoic acid, or their synthetic combination, enhances neuroprotection in a rat model of ischemia/reperfusion[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87865
- [13] Moraes TB, Dalazen GR, Jacques CE, et al. Glutathione metabolism enzymes in brain and liver of hyperphenylalaninemic rats and the effect of lipoic acid treatment [J]. *Metab Brain Dis*, 2014, 29(3): 609-615
- [14] Faraco G, Moraga A, Moore J, et al. Circulating endothelin-1 alters critical mechanisms regulating cerebral microcirculation[J]. *Hypertension*, 2013, 62(4): 759-766
- [15] 高俊杰, 阎胜利, 王婷婷. 实验性低血糖对糖尿病大鼠血清内皮素-1的影响 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2013, 21(8): 749-751
- [16] Peng YJ, Nanduri J, Raghuraman G, et al. Role of oxidative stress-induced endothelin-converting enzyme activity in the alteration of carotid body function by chronic intermittent hypoxia[J]. *Exp Physiol*, 2013, 98(11): 1620-1630

[收稿日期] 2014-06-30